

Composante biochimique de la production du palmier à huile

J. M. ESCHBACH (1)

Résumé. — De 1978 à 1981, l'I.R.H.O. a effectué dans ses laboratoires de Montpellier et de Côte-d'Ivoire, une étude comparant la production du palmier à huile et les activités de certaines enzymes, telles : la nitrate réductase, la glutamate deshydrogénase, la glutamine synthétase, la phosphatase acide, la peroxydase, la glucose 6 phosphate deshydrogénase. Les teneurs en acides aminés libres ont aussi été déterminées. Il a fallu tout d'abord mettre au point ou adapter les méthodes de dosage et définir les conditions d'échantillonnage ; des méthodes relativement simples et rapides de mesure des activités enzymatiques ont été proposées à l'issue de cette première partie. Ensuite on a étudié, dans des expériences de fertilisation, les relations existant entre la nutrition minérale et ces paramètres biochimiques. On a ainsi montré que les teneurs de certains acides aminés dépendent de la nutrition potassique ou de la nutrition azotée et que les activités de la nitrate réductase et de la phosphatase acide sont corrélées aux teneurs en éléments minéraux des feuilles et à la production de régimes des arbres. Ces résultats ouvrent donc de nouvelles perspectives pour mieux comprendre et contrôler la nutrition minérale du palmier à huile, si l'on peut, au préalable, définir des niveaux critiques d'activités enzymatiques. Par contre, la troisième partie de l'étude consacrée à une comparaison des variations des paramètres biochimiques en fonction de la production, pour différents types de matériel végétal plantés dans les essais génétiques, n'a pas permis de proposer des critères de sélection précoce, car les observations effectuées n'ont pas mis en évidence des relations constantes entre les activités enzymatiques et la production des différents croisements étudiés.

Comme pour la plupart des plantes pérennes, les travaux d'amélioration du palmier à huile consomment beaucoup de temps et de superficie. Il est possible d'en faire partiellement l'économie en utilisant des critères de sélection précoce. L'étude des activités mitochondriales a déjà permis de mettre en évidence l'existence de corrélations significatives entre les activités mesurées en pépinières et la production au champ des mêmes croisements [I.R.H.O., 1980]. Les activités enzymatiques peuvent également donner une estimation du potentiel métabolique d'un génotype [Hageman, 1967] et fournir à ce titre d'autres critères de sélection précoce à condition de montrer au préalable que ces activités sont corrélées au rendement et qu'elles peuvent être mesurées valablement au stade juvénile.

C'est une des raisons pour lesquelles l'I.R.H.O. s'est intéressé à l'étude des activités enzymatiques du palmier à huile, qui peuvent également rendre compte de l'influence du milieu et de la nutrition minérale sur le fonctionnement de la plante.

Après avoir exposé les méthodes utilisées et les dosages effectués à ce jour, sur feuilles, racines ou germes de la graine, on examinera successivement les implications avec la nutrition minérale et les variations dues à la nature du matériel végétal.

Ces variations permettent de distinguer les croisements au sein d'un même essai sans qu'il soit possible d'estimer le potentiel de production correspondant, faute de relation générale entre les paramètres biochimiques et le rendement.

I. — MÉTHODES DE DOSAGE ET FACTEURS DE VARIATIONS

La première partie de l'étude a été consacrée au choix des enzymes et à la mise au point de leurs dosages.

1) La nitrate réductase.

Certaines enzymes du métabolisme de l'azote ont été retenues et plus particulièrement la nitrate réductase. Avec la nitrite réductase, elle assure la transformation de NO_3 en NH_4 . Moins active que la nitrite réductase [Schrader *et al.*, 1968], elle serait la première étape limitante de l'assimilation de l'azote. Certains voient en elle un test de sélection précoce [Johnson, 1976]. D'autres ne la considèrent que comme un indice de croissance, si les nitrates ne sont pas limitants.

a) Dosage.

L'activité enzymatique a été mesurée selon la méthode *in vitro*. La concentration en substrat est saturante pour 100 mM et le mouillant employé est le propanol à 2,5 p. 100. L'activité est proportionnelle au temps d'incubation pendant au moins 1 heure.

Les dosages effectués en Côte-d'Ivoire montrent qu'il s'agit d'une enzyme très labile avec un temps de demi-vie d'environ 4 heures.

b) Variations.

Les résultats de ces dosages varient parfois de façon très sensible avec l'échantillonnage.

Différents facteurs entrent en jeu :

— l'heure de prélèvement, car la lumière provoque l'induction de l'activité [Beevers, 1965; Chen, 1969]. Cela entraîne des variations de 1 à 6 sur les plants de pépinière, de 1 à 2 sur les arbres adultes dans la journée (maximum vers 11 heures du matin) ;

— le rang de la feuille : sur plants de pépinière de 12 feuilles, l'activité est maximale vers le rang 6. Pour les arbres adultes, la zone de prélèvement influe également. On a retenu dans la pratique de prélever aux trois quarts supérieurs de la feuille ;

— l'âge : l'activité décroît avec l'âge puis se stabilise en relation avec l'établissement définitif de la surface foliaire ;

— le terrain.

Le coefficient de variation d'un dosage est, par contre, assez faible (5,9 p. 100). Celui entre plants d'un même croisement est supérieur à 25 p. 100 et sans relation avec la vigueur végétative.

La nitratre réductase étant induite par son substrat [Bevers, 1965] et inhibée par NH_4 [Losada, 1970 ; Erith, 1972 ; Orebasito, 1975], des essais d'induction ont été réalisés. Le trempage des bases pétiolaires dans une solution de nitrates pendant 4 à 6 heures multiplie l'activité par 6 pour de jeunes plants carencés, par 50 pour des folioles d'arbres adultes. Il semblerait donc que ce soit la fourniture en nitrate, plus que l'activité potentielle enzymatique, qui soit le principal facteur limitant de l'assimilation de l'azote.

2) Les acides aminés libres et les protéines.

L'étude du métabolisme de l'azote est complétée par le dosage des acides aminés libres et des protéines.

Celui des acides aminés libres est effectué par un auto-analyseur TSM Technicon [Lozano *et al.*, 1976].

Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry [1951]. Le broyage des feuilles doit se faire, obligatoirement, en présence de polyvinylpyrrolidone (Polyclar AT). Pour le dosage des extraits de germes, le Polyclar n'est pas indispensable mais du Triton X-100 à 0,1 p. 100 est conseillé.

Ce taux de protéines décroît à partir de la feuille de rang 17 chez les arbres adultes et varie aussi en fonction de l'âge et de la situation.

3) La phosphatase acide.

Elle peut jouer un rôle important dans la régulation du métabolisme des glucides [Turner, 1975]. Elle est affectée par certaines conditions de nutrition minérale [Besford, 1975, 1978] ou d'alimentation hydrique [Adjahossou, 1977].

a) Dosage.

L'enzyme est relativement stable. L'addition de mercapto éthanol est indispensable dans le milieu d'extraction pour les feuilles. Pour les extraits de germes, le Triton X-100 est obligatoire.

b) Variations.

Là encore de nombreux facteurs interviennent :

- la nature du sol,
- l'âge : l'activité et l'activité spécifique décroissent légèrement avec l'âge,
- le rang de la feuille : l'activité sur arbres adultes est maximale vers la feuille de rang 5 puis présente un palier vers les rangs 9 à 17. Elle varie également au long de la foliole. L'activité spécifique est maximale pour les feuilles âgées et reste relativement constante pour une foliole.

Le coefficient de variation du dosage est faible

(5,6 p. 100). Les variations entre individus à l'intérieur d'un même croisement donnent des coefficients de 9,5 p. 100 pour les feuilles et 16,4 p. 100 pour les racines de plants de pépinière et de 16 p. 100 pour les feuilles d'arbres adultes.

4) Les oxydases et les phénols.

Les oxydases, impliquées dans les phénomènes de régulation auxinique et les phénols peroxydases et polyphénol-oxydases sont assez sensibles aux conditions de nutrition minérale [Yakimovich, 1976 ; Smirnova, 1976]. Leurs dosages sont au point, mais n'ont pas encore été exploités dans nos études.

5) La glucose 6 phosphate déshydrogénase.

La glucose 6 phosphate déshydrogénase et la 6 phosphogluconate déshydrogénase sont les deux premières enzymes du cycle des pentoses. Ce cycle permet la régénération du cofacteur NADPH indispensable à la lipogenèse. Sa régénération est peut-être un facteur limitant pour la production d'huile. L'extraction et le dosage, effectués sur le mésocarpe des fruits, ont montré que les activités enzymatiques étaient multipliées par deux à trois à l'époque de la véraison pour décroître par la suite.

II. — INFLUENCE DE LA NUTRITION MINÉRALE

Ces paramètres biochimiques varient en fonction de la nutrition minérale.

1) Action sur les acides aminés libres des feuilles.

Une déficience ou un mauvais équilibre en N, P ou K entraîne une augmentation du taux d'A.A.L. par suite d'une mauvaise incorporation aux protéines [NGuyen *et al.*, 1973 ; Fabian-Galan, 1970 ; Mitchell *et al.*, 1976]. Les résultats obtenus dans un essai de fertilisation en Indonésie (AL-CP 1) ne sont pas conformes à cette hypothèse puisque l'apport d'engrais azotés augmente à la fois la production et le taux d'acides aminés libres (v. tabl. ci-dessous).

En Côte-d'Ivoire, dans un essai N, K, Mg ayant bien répondu à la fertilisation potassique (LM-CP 23), on observe une augmentation des acides aspartique et glutamique et une diminution de l'asparagine et de la glutamine avec la levée de carence en K. La carence en K provoque donc une augmentation des amides consécutive à la mise en réserve de l'azote disponible non utilisé pour la synthèse des protéines.

Les coefficients de corrélation entre la production et les teneurs en acides aspartique et glutamique sont respectivement de 0,90* et 0,84*. On observe un effet similaire de la nutrition potassique dans un autre essai de Côte-d'Ivoire (DA-CP 13).

Fumure	N p. 100 feuille 17	A.A.L. (micromole/10 g de M.F.)	Production (en kg de régimes/arbre/an)
N0	2,12	38,1	108
N1	2,40**	45,4**	158**
N2	2,44**	44,0**	155**

Un examen plus détaillé de l'effet de l'azote sur le contenu en A.A.L. montre que l'accroissement porte sur les acides aspartique et glutamique.

2) Action sur la nitrate réductase et la phosphatase acide.

Cette action a été étudiée dans une expérience au champ mise en place sur la station de La Mé en Côte-d'Ivoire en 1974-75. C'est une expérience factorielle $4 \times 2 \times 2$ étudiant l'effet du chlorure de potassium, du sulfate d'ammoniaque et du sulfate de magnésium sur la production.

Les résultats obtenus dans cette expérience ont été résumés dans le tableau I.

On observe des différences significatives d'activités entre les traitements ainsi que des corrélations significatives entre des activités et le rendement ou les teneurs en éléments minéraux des feuilles.

Ces résultats justifient l'intérêt porté à ces enzymes et ouvrent une nouvelle voie de recherche dans le domaine de la nutrition minérale. S'il était possible en effet de définir des niveaux critiques pour les activités enzymatiques, on disposerait peut-être d'un nouvel outil de diagnostic des déficiences ou des déséquilibres minéraux du palmier à huile.

III. — ESSAI DE CARACTÉRISATION BIOCHIMIQUE DE DIFFÉRENTS CROISEMENTS

1) Matériel végétal utilisé.

Pour que les critères retenus soient utilisables, il faut d'abord montrer qu'ils permettent d'identifier les croisements.

Une étude préliminaire a été effectuée à Montpellier sur jeunes plantules de cinq feuilles pour quelques lignées dis-

ponibles provenant de croisements La Mé \times Déli (LM \times DE) et Yangambi \times Déli (YA \times DE).

Elle a été complétée par l'étude de huit croisements bons et mauvais producteurs à Montpellier sur plantules et à La Mé sur plants de pépinières.

Les résultats ont été très encourageants, mettant en évidence des différences significatives d'activité entre les croisements pour la nitrate réductase et la phosphatase acide avec une bonne corrélation entre les activités mesurées à Montpellier et à La Mé.

Cette étude préliminaire ayant donné de bons résultats le matériel végétal a été diversifié. Il est décrit dans le tableau II.

TABLEAU II. — Inventaire des croisements utilisés
(List of crosses used)

Année et lieu de plantation (Year and site of planting) type d'hybride	1961 La Mé	1967 LM-GP 8 La Mé	1968 LM-GP 9 La Mé	1968 MD-GP 1 Mondoni
LM \times DE	11	9	7	8
YA \times DE		5		8
(YA \times DE) \times LM		3	8	
YA \times UR			1	

LM = La Mé ; YA = Yangambi ; DE = Déli ; UR = Ulu-Remis

Les hybrides plantés en 1961 correspondent à une première génération interorigines La Mé-Déli fournissant une gamme très large de production d'huile à l'hectare (2,4 t à 4,4 t/an de 6 à 9 ans).

Les hybrides des années 1967 et 1968 font partie des champs généalogiques plantés dans le cadre des travaux d'amélioration ultérieurs à La Mé en Côte-d'Ivoire et à Mondoni au Cameroun. La variation des productions est plus faible.

TABLEAU I. — Effet de la nutrition minérale sur l'activité nitrate réductase (ANR) et phosphatase acide spécifique (APAS)
(Effect of mineral nutrition on nitrate reductase activity-NRA- and specific acid phosphatase activity-SAPA)

TRAITEMENTS (Treatments)		N0	N1	Mg0	Mg1	K0	K1	K2	K3	Coefficients de corrélations ANR (NRA) APAS (SAPA)	
DF (L.A.) 1/79 P. 100 M.S. (D.M.) Feuille (leaf) 9	N	2,81	2,85	2,82	2,84	2,73	2,85	2,85	2,91	0,65**	- 0,79*
	P	0,158	0,159	0,158	0,158	0,157	0,158	0,159	0,159	0,28	- 0,44
	K	0,825	0,851	0,842	0,834	0,580	0,767*	0,982**	1,024**	0,75**	- 0,81*
	Mg	0,316	0,328	0,309	0,335	0,423	0,328*	0,273*	0,264*	- 0,61*	0,73*
	Cl	0,706	0,672	0,696	0,681	0,596	0,731**	0,702**	0,725**	0,48	- 0,48
	S	0,208	0,215**	0,212	0,211	0,202	0,212*	0,214**	0,218**	0,51	- 0,81*
Production (yield)	Nb régimes (No bunches)	12,6	12,7	12,7	12,6	10,8	12,5**	13,3**	14,1**	0,58*	- 0,74*
	Poids moyen (Mean weight)	2,73	2,99*	2,86	2,86	2,57	2,85*	3,09**	2,94**	0,57*	- 0,70*
	kg rég./arbre (kg bunches/tree)	32,6	35,5	34,4	33,7	25,9	33,6*	38,2**	38,7**	0,60*	- 0,76*
	Nitrate réductase μ mole/h/g PF (FW)	7,9	9,3	7,5	9,7*	5,1	7,8**	9,8**	11,7**		- 0,62*
Activités (Activities)	Phosphatase acide spécifique μ mole/min/mg protéine	0,75	0,65	0,67	0,73	0,87	0,72*	0,66**	0,56**		

2) Variation en fonction de la nature du matériel végétal.

La mesure des activités enzymatiques a été complétée par la détermination du taux de protéines et du poids spécifique du limbe des folioles. Les valeurs moyennes par type de croisement figurent dans le tableau III.

a) Nitrate réductase.

L'activité NR des arbres adultes est plus faible pour les lignées plantées en 1961 que pour celles plantées en 1967 et 1968. Il faut sans doute y voir l'influence de l'âge des arbres, les prélèvements ayant été effectués sur le même rang foliaire.

Les activités des plants de pépinière, plus élevées sur le MD-GP 1, correspondent au fait que les prélèvements ont été effectués sur des plantules plus jeunes.

En règle générale, les activités sont 10 à 100 fois plus faibles que celles trouvées dans la littérature pour d'autres arbres.

L'activité moyenne est beaucoup plus variable entre les dates de prélèvement qu'entre les croisements.

Il existe cependant des différences significatives d'activité entre les croisements étudiés dans chacun des essais pris séparément.

On n'observe aucune relation entre les activités nitrate réductase des plants de pépinière et les activités des arbres adultes (Fig. 1 — exemple du LM-CP 9).

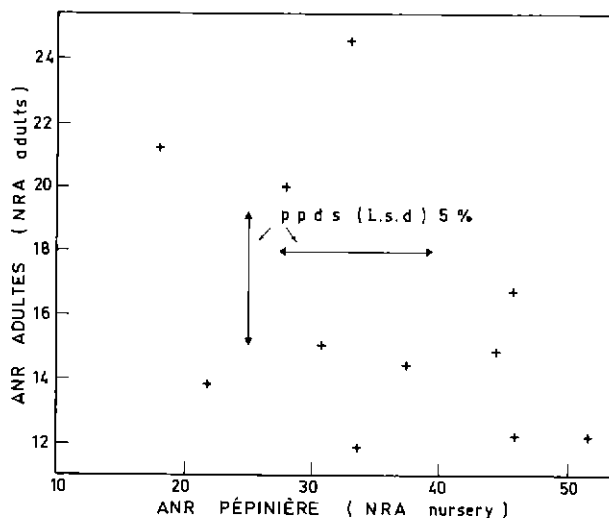


FIG. 1. — Comparaison de l'activité nitrate réductase des plants de pépinière et des arbres adultes pour les mêmes croisements — exemple du LM-GP 9 (Comparison of nitrate reductase activity of nursery plants and adult trees of the same crosses — example of LM-GP 9).

b) Poids spécifique des folioles.

C'est un paramètre simple et rapide à mesurer, caractéristique d'une vigueur du feuillage.

Les moyennes des différents essais sont comparables et il existe des différences significatives entre croisements.

Il existe une relation positive mais non significative entre poids spécifiques des lignées aux stades jeunes à adultes.

c) Phosphatase acide.

Rappelons qu'elle a été mesurée sur les feuilles pour les arbres adultes et sur les racines pour les plants de pépinière.

Sur chaque type d'organe les activités sont comparables pour les différents types de croisement de chaque essai. On observe à l'intérieur des essais des différences significatives d'activité entre les croisements. Il en est de même pour l'activité phosphatase acide spécifique.

Sur jeunes plantules (BIO-ES 3) les activités phosphatase acide des feuilles et des racines sont positivement corrélées.

On n'observe pas de relation entre activités des arbres adultes et activités des plants de pépinière. Ces dernières, par contre, sont significativement corrélées avec l'activité phosphatase acide des germes pour les essais LM-GP 9 et MD-GP 1.

3) Relations entre les paramètres biochimiques et la production.

a) Acides aminés libres.

Ils ont été dosés dans les feuilles de 8 lignées des plantations 1961 et il existe des différences significatives de teneurs entre lignées pour les acides aspartique et glutamique, l'arginine, la sérine et la proline.

On a pu mettre en évidence des corrélations significatives entre taux d'acides aminés libres et paramètres de la production.

Production 6-9 ans			
	Poids moyen	Nombre de régimes	Poids moyen du régime
Asparagine + glutamine	— 0,74*		
Acide aspartique + acide glutamique	— 0,76*		+ 0,89**

Un taux élevé d'amide, qui correspond en général à une mise en réserve de l'azote non utilisé pour la synthèse des protéines, est associé à des croisements ayant peu de gros régimes et inversement, un taux faible est lié à des croisements ayant beaucoup de petits régimes. On n'observe cependant pas de relations significatives avec le rendement.

b) Protéines.

Sur arbres adultes le taux de protéines est relié soit négativement (plant. 1961, $r = -0,74^*$), soit positivement (LM-GP 8, $r = 0,61^*$), soit pas du tout (LM-GP 9, $r = 0,14$) avec la production de régimes (Tabl. IV).

c) Poids spécifique des folioles.

Le tableau V résume les relations obtenues avec les paramètres de la production.

Sur arbres adultes, ce paramètre semble relié positivement au poids moyen des régimes, et négativement au nombre de régimes et à la production de régimes et d'huile par hectare.

Les résultats obtenus sur plants de pépinière sont moins nets.

d) Activité nitrate réductase.

A l'exception des LM \times DE des plantations 1961, on n'observe pas de relation entre activité nitrate-réductase et production (Tabl. VI).

TABLEAU III. — Valeur moyenne des paramètres biochimiques par type de croisements
(folioles en pépinière et plantations adultes — germes sur graines germées)
(Average values of the biochemical parameters per type of cross-leaflets in nursery and adult plantings
— germs of germinated seeds)

	LM × DE				YA × DE		(YA × DE) × LM	
	Pl.61	GP8	GP9	GP1	GP8	GP1	GP8	GP9
Activité nitrate réductase $\mu\text{mole/h/g P.F. (F.W.)}$								
Adulte (Adult)	10,6	19,8	15,8				23,3	16,4
Pépinière (Nursery)	41,9	41,8	41,2	71,0	49,5	72,8	34,1	31,1
Poids spécifique folioles mg/cm^2 (Specific weight leaflets)								
Adulte (Adult)	27,9	27,9	27,9				27,1	27,2
Pépinière (Nursery)	20,1	19,0	19,3	19,4	18,0	18,8	19,1	19,3
Activité phosphatase acide $\mu\text{mole/min/g P.F. (F.W.)}$								
Adulte (Adult)	2,17	2,61	2,56				2,57	2,82
Pépinière (Nursery)	3,54	3,99	3,49	3,63	4,78	4,55	4,02	3,56
Germe (Germ)	7,73	7,94	12,40	8,50	9,82	9,58	3,42	14,60
Protéines mg/g P.F. (F.W.)								
Adulte (Adult)	3,39	4,29	5,19				4,25	5,58
Pépinière (Nursery)	5,76	4,95	5,50	5,59	5,02	5,92	4,95	5,26
Germe (Germ)	9,44	12,42	8,18	8,23	14,41	8,66	4,15	8,94
Activités phosphatase acide spécifiques $\mu\text{mole/min/mg protéines}$								
Adulte (Adult)	0,70	0,70	0,54				0,69	0,55
Pépinière (Nursery)	0,62	0,81	0,64	0,65	0,96	0,77	0,81	0,67
Germe (Germ)	0,84	0,64	1,52	1,11	0,68	1,18	0,67	1,64

TABLEAU IV. — Coefficients de corrélation entre les taux de protéines et les paramètres du rendement
(Coefficients of correlation between protein contents and yield parameters)

	Taux d'extraction (Extraction rate)	Huile/pulpe (Oil/pulp)	Nbre de régimes (No of bunches)	Poids moyen (Mean weight)	T régimes/ha (t bunches/ha)	T huile/ha (t oil/ha)
Adulte (Adult)						
Pl. 1961	- 0,17	- 0,41	- 0,65	0,31	- 0,74*	- 0,64
LM-GP 8	0,23	0,27	0,15	0,21	0,61*	0,61*
LM-GP 9	- 0,10	- 0,23	- 0,14	0,30	0,14	0,07
Pépinière (Nursery)						
Pl. 1961	- 0,47	- 0,11	0,74*	- 0,26	0,51	0,28
LM-GP 8	0,27	0,39	- 0,11	0,20	0,03	0,27
LM-GP 9	- 0,24		0,17	0,06	0,45	0,19
MD-GP 1	0,52*	0,43	0,07	- 0,58*	- 0,28	0,03
LM × DE GP 1	- 0,35	0,04	0,85**	- 0,84**	0,69	0,72*
YA × DE GP 1	0,53	0,53	- 0,20	- 0,57	- 0,51	- 0,02
Germes (Germs)						
Pl. 1961	- 0,65	- 0,56	0,30	- 0,04	0,32	0,06
LM-GP 8	- 0,11	0,47	0,32	- 0,43	- 0,19	- 0,29
LM-GP 9	- 0,45	- 0,37	- 0,05	0,03	- 0,02	- 0,42
MD-GP 1	0,59*	0,54*	- 0,06	- 0,34	- 0,28	0,11
LM × DE GP 1	0,10	0,60	0,21	- 0,42	0,00	0,05
YA × DE GP 1	0,63	0,53	0,08	- 0,42	- 0,18	0,39

N.B. : Les mesures ont été effectuées sur feuilles d'arbres adultes ou de pépinières et sur germes de graines germées.
Il en est de même pour les taux de protéines des racines de plants de pépinière et des germes.

e) Activité phosphatase acide.

On avait obtenu dans les essais préliminaires une forte liaison négative entre activité des racines des plants de

pépinière et production à l'âge adulte. Les mesures effectuées par la suite n'ont pas permis de confirmer cette première observation (Tabl. VII).

TABLEAU V. — Coefficients de corrélation entre le poids spécifique des folioles et les paramètres du rendement
(Coefficients of correlation between specific weight of leaflets and yield parameters)

	Huile/pulpe (Oil/pulp)	Nbre de régimes (No of bunches)	Poids moyen (Mean weight)	T régimes (t bunches)	T régimes (t oil)	Taux d'extraction (Extraction rate)
<i>Adulte (Adult)</i>						
Pl. 1961	– 0,61	– 0,06	– 0,40	– 0,58	– 0,74*	– 0,92**
LM-GP 8	– 0,06	– 0,67*	0,86**	0,10	– 0,07	– 0,25
LM-GP 9	0,13	– 0,80**	0,65*	– 0,58*	– 0,65*	– 0,36
<i>Pépinière (Nursery)</i>						
Pl. 1961	– 0,47	0,26	– 0,74*	– 0,58	– 0,70*	– 0,44
LM-GP 8	– 0,62*	0,21	– 0,15	0,17	– 0,49	– 0,67**
LM-GP 9		0,24	– 0,37	– 0,30	– 0,09	0,17
MD-GP 1	0,37	0,25	– 0,29	0,12	0,44	0,34
LM × DE MD-GP 1	0,23	– 0,27	0,11	– 0,40	– 0,19	0,79*
YA × DE MD-GP 1	0,51	0,42	– 0,64	0,01	0,56	0,58

TABLEAU VI. — Coefficients de corrélation entre l'activité de la nitratre réductase et les paramètres du rendement
(Coefficients of correlation between nitrate reductase activity and yield parameters)

	Huile/pulpe (Oil/pulp)	Nbre de régimes (No of bunches)	Poids moyen (Mean weight)	T régimes (t bunches)	T huile (t oil)	Taux d'extraction (Extraction rate)
<i>Adulte (Adult)</i>						
Pl. 1961	0,02	– 0,36	0,28	– 0,24	– 0,35	– 0,57
LM-GP 8	0,33	0,48	– 0,48	0,07	– 0,14	– 0,31
LM-GP 9	– 0,13	0,01	– 0,09	– 0,04	0,01	0,08
<i>Pépinière (Nursery)</i>						
Pl. 1961	0,22	0,18	0,44	0,70*	0,63	0,02
LM-GP 8	0,30	– 0,43	0,35	– 0,26	0,16	0,37
LM-GP 9		– 0,19	0,29	0,31	– 0,19	– 0,49
MD-GP 1	– 0,02	0,09	– 0,29	– 0,08	0,12	0,28
LM × DE MD-GP 1	– 0,42	– 0,10	– 0,06	– 0,25	– 0,33	– 0,04
YA × DE MD-GP 1	0,11	0,57	– 0,66	0,13	0,55	0,41

TABLEAU VII. — Coefficients de corrélation entre l'activité de la phosphatase acide et les paramètres du rendement
(Coefficients of correlation between acid phosphatase activity and yield parameters)

	Huile/pulpe (Oil/pulp)	Nombre (No)	Poids moyen (Mean weight)	T régimes/ha (t bunches/ha)	T huile/ha (t oil/ha)	Taux d'extraction (Extraction rate)
<i>Adulte (Adult)</i>						
Pl. 1961	– 0,13	– 0,39	0,11	– 0,51	– 0,37	0,17
LM-GP 8	0,11	0,39	– 0,02	0,72**	0,74**	0,29
LM-GP 9	– 0,02	0,34	– 0,13	0,45	0,46	0,20
<i>Pépinière (Nursery)</i>						
Pl. 1961	0,03	– 0,08	0,80**	0,88**	0,92**	0,30
LM-GP 8	0,28	– 0,15	0,00	– 0,32	0,05	0,31
LM-GP 9		0,01	0,20	0,49	– 0,08	– 0,54*
MD-GP 1	0,40	– 0,39	– 0,21	– 0,62**	– 0,40	0,54*
LM × DE MD-GP 1	0,05	0,56	– 0,35	0,70	0,61	– 0,64
YA × DE MD-GP 1	0,47	– 0,53	– 0,48	– 0,75*	– 0,42	0,50
<i>Germes (Germs)</i>						
Pl. 1961	0,07	– 0,28	– 0,43	– 0,78*	– 0,71*	0,03
LM-GP 8	0,16	0,39	– 0,44	0,23	0,32	0,12
LM-GP 9	– 0,28	0,12	0,00	0,28	– 0,18	– 0,47
MD-GP 1	0,71**	– 0,29	– 0,38	– 0,60*	– 0,17	0,78*
LM × DE MD-GP 1	0,74*	0,28	– 0,47	0,04	0,20	0,37
YA × DE MD-GP 1	0,80*	– 0,28	– 0,67	– 0,62	0,04	0,82*

La liaison peut être, soit positive, soit négative selon l'essai ou le type de matériel végétal. Il en est de même pour l'activité spécifique.

Les relations observées entre les paramètres biochimiques et les paramètres de production sont très variables selon le type d'essai et le type de croisement. Elles ne peuvent en aucun cas servir de critères de sélection précoce.

CONCLUSIONS

L'objectif principal de cette étude était de rechercher des critères biochimiques caractéristiques des croisements pour servir de complément aux activités mitochondriales dans le domaine des tests de sélection précoce.

Les résultats obtenus à ce jour montrent qu'il est en effet possible de trouver des différences significatives entre croisements pour chacun des paramètres étudiés, mais qu'il n'existe pas de relation générale entre ces paramètres biochimiques et la production.

Il apparaît par contre que les activités enzymatiques nitrate réductase et phosphatase acide, objets essentiels de l'étude, sont nettement influencées par les conditions de nutrition minérale à tel point qu'elles pourraient être envisagées comme méthode de diagnostic.

Une fumure N, K ou Mg ayant un effet net sur la production augmente les activités nitrate réductase et diminue les activités phosphatase acide d'une façon plus importante que les niveaux de N, K ou Mg dans les feuilles.

L'étude de ces enzymes pourrait aussi être effectuée en vase de végétation face à des concentrations croissantes en éléments nutritifs de façon à permettre peut-être de discriminer les lignées à faibles besoins en éléments minéraux.

Il serait enfin possible de développer l'étude des enzymes impliquées dans la lipogénèse, processus biochimique ultime qui conduit des glucides produits par la photosynthèse à l'accumulation d'huile dans le fruit. Elles n'avaient pas été étudiées jusqu'alors car on pensait que l'huile présente dans les tissus concernés pouvait gêner les dosages. Or, il a été possible dans le cadre de ce travail de mettre au point une méthode simple et rapide permettant d'obtenir un sérum clair représentatif du milieu où s'effectue la transformation des glucides en lipides, sérum sur lequel il est parfaitement possible d'effectuer les dosages enzymatiques.

Il serait donc possible d'étudier l'efficacité du système enzymatique dans le fruit ainsi que d'éventuels facteurs limitants de la lipogénèse et de comparer les croisements sur cette base.

BIBLIOGRAPHIE

- ASLAM M., OAKS A., HUFFAKER R. C. (1976). — Effects of light and glucose on the induction of nitrate reductase and on the distribution of nitrate in etiolate barley leaves *Plant Physiol.*, **58**, p. 588-591.
- BAR-AKIVA A., STERNBAUM J. (1965). — Possible use of nitrate reductase activity as a measure of the nitrogen requirement of citrus tree. *Plant Cell Physiol.*, **6**, p. 575-577.
- BAR-AKIVA A., LAVON R. (1968). — Peroxidase activity as an indicator of the iron requirement of citrus tree *Israel J. Agric. Res.*, **18**, p. 144-153.
- BAR-AKIVA A., SAGIR J., LESHEM J. (1970). — Nitrate reductase activity as an indicator for assessing the N requirement of grass crops. *J. Sci. Fd Agric.*, **21**, p. 405-407.
- BEEVERS L., SCHRADER L. E., FLESHER D., HAGEMAN R. H. (1965). — The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledon and maize seedling. *Plant Physiol.*, **40**, p. 691-698.
- BESFORD R. T., DEEN J. L. W. (1977). — Peroxidase activity as an indicator of the iron status of conifers. *Scientia Hort.*, **7**, p. 161-169.
- BESFORD R. T. (1978). — Enzymes as indicators of nutritional imbalances in plants. *J. Sci. Food Agric.*, **29**, 7, p. 55.
- BRUNETTI N., HAGEMAN R. H. (1976). — Comparison of *in vivo* and *in vitro* assays of nitrate reductase in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Plant Physiol.*, **58**, p. 583-587.
- CAVALLINI J. A. (1978). — Mineral nutrition and nitrate reductase activity in coffee trees affected by mineral deficiency *Turrialba*, **28**, 1, p. 61-66.
- CHEN T. C., RIES S. K. (1969). — Effect of light and temperature on nitrate uptake and nitrate reductase activity in rye and oat seedlings. *Can. J. Bot.*, **47**, p. 341-343.
- FABIAN-GALAN G. (1970). — Influence of phosphorus and potassium deficiency on free amino-acid contents of sunflower leaves *Rev. Roum. Biol. Botanique*, **15**, 5, p. 345-349.
- FAKOREDE M. A., MOCK J. J. (1978). — Nitrate reductase activity and grain yield of maize cultivars hybrids. *Crop Sci.*, **18**, 4, p. 680-682.
- FRIEDRICH J. N., SMITH D., SCHRADER L. E. (1977). — Nitrate reductase activity in N fractions in timothy and switch grass as influenced by N and S fertilisation. *Can. J. Plant Sci.*, **57**, p. 1151-1157.
- HAGEMAN R. H., LENG E. R., DUDLEY S. W. (1967). — A biochemical approach to corn breeding. *Adv. Agron.*, **19**, p. 45-86.
- HARPER J. E., HAGEMAN R. H. (1972). — Canopy and seasonal profiles of nitrate reductase in soybeans *Plant Physiol.*, **49**, p. 146-154.
- HERNANDEZ H. H., WALSH D. E., BAUER A. (1974). — Nitrate reductase of wheat. Its relation to nitrogen fertilization. *Cereal Chemistry*, **51**, 3, p. 330-336.
- HEWITT E. J. (1975). — Assimilatory nitrate nitrite reduction. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **26**, p. 73-100.
- HOMES M. V., DEJAEGERE R. E. (1968). — Variation de la composition protéique en relation avec la nutrition minérale des plantes. *Agrochimica*, **12**, 4, p. 284-303.
- I.R.H.O. (1980). — Rapport d'activités 1978-1979.
- JOHNSON C. B., WHITTINGTON W. J., BLACKWOOD G. C. (1976). — Nitrate reductase as a possible predictive test of crop yield. *Nature*, **262**, p. 133-134.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L., RANDALL R. J. (1951). — Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, p. 265-275.
- LOZANO Y., RICHERT M. T., GEOFFROY S. (1976). — Dosage automatique des acides aminés libres dans des feuilles de palmier à huile sur autoanalyseur TSM Technicon. *Oléagineux*, **31**, No 8-9, p. 391-393.
- MITCHELL G. A., BINGHAM F. T., YERMONOS D. M., LABANAUSKAS L. K. (1900). — Influence de la nutrition azotée, phosphorique et potassique sur la composition en protéines et en acides aminés libres de la farine de sésame. *Soil Sci. Soc. of America J.*, **40**, 1, p. 64-68 et *Rev. Potasse*, 8/1976, sect. 24, 32 — suite, p. 1-10.
- MULDER D. G., BAKEMA K. (1956). — Effect of N, P, K and Mg nutrition of potato plants on the content of free amino-acids and on the amino-acid composition of the protein of the tubers. *Plant and Soil*, **7**, 2, p. 135-165.
- NGUYEN S. T., PAQUIN R., O'GRADY L. J., QUELETTE G. J. (1973). — Influence de la fertilisation azotée, phosphatée et potassique sur l'incorporation des acides aminés aux protéines et les rendements de la luzerne. *Rev. Potasse*, 2/1973, sect. 7, 14 — suite.
- PATRA M. K., MISHRA D. (1979). — Pyrophosphatase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during leaf development and senescence. *Plant Physiol.*, **63**, 2, p. 318-323.
- RUIZ R., NORERO Sch. A. (1977). — Evaluation of nitrate reductase activity as means of diagnosing orange tree N nutrition. *Agricultura Technica*, **37**, 2, p. 59-64.
- SCHRADER L. E., PETERSON D. M., LENG E. R., HAGEMAN R. H. (1966). — Nitrate reductase activity of maize hybrids and their parental inbred. *Crop Sci.*, **6**, p. 169-173.
- SCHRADER L. E. (1968). — Some characteristics of nitrate reductase from higher plants. *Plant Physiol.*, **43**, p. 930-940.
- SEDGWICK B. (1973). — The control of fatty acid biosynthesis in plants. In : *Biosynthesis and its control in plants*, Milborrow (edit) Academic Press, London and New York, p. 179-217.
- SMIRNOVA N. P. (1976). — The effect of fertilizers on the oxidation and reduction processes in diploid and polyploid sugar beet. S. B. Nauch. Tr. Belorus. S. Kh. Akad, No 13, p. 74-78, d'après *Plant Breeding Abstracts*, 78-7819.
- VAN EGMOND F., BRETELER H. (1972). — Nitrate reductase activity and oxalate content of sugar beet leaves *Netherl. J. Agric. Sci.*, **20**, p. 193-198.
- VILLALOBOS E., CARVAJAL J. F. (1977). — Nitrate reductase activity as a guide to the N fertilizer requirement of five crop plants. *Agronomica Costaricensis*, **1**, 1, p. 57-63.
- WARNER R. L., HAGEMAN R. H., DUDLEY J. W., LAMBERT R. J. (1969). — Inheritance of nitrate reductase activity in *Zea mays* *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **62**, p. 785-792.
- YAKIMOVICH N., SAZONOVA L. (1976). — Contents of phenol compounds in developing potato tubers under different levels of N, P and K. Optimizatsiya fotosinteticheskogo apparata vozdeistviem razlichnykh faktorov, 147.

SUMMARY

Biochemical components of oil palm yield.J. M. ESCHBACH, *Oléagineux*, 1982, 37, N° 4, p. 159-168.

From 1978 to 1981, the I.R.H.O. carried out a study comparing oil palm yield and the activities of certain enzymes like nitrate-reductase, glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase, acid phosphatase, peroxidase and glucose 6 phosphate dehydrogenase in its Montpellier and Ivory Coast laboratories. Free fatty acid levels were also determined. It was first necessary to develop or adapt titration methods and define the sampling conditions. Relatively simple, quick methods to measure enzymatic activities were proposed at the end of this first part. In manuring experiments, the relations between mineral nutrition and these biochemical parameters were then studied. It was thus demonstrated that the levels of certain amino acids depend on potassic or nitrogenous nutrition, and that the activities of nitrate-reductase and acid phosphatase are correlated to leaf mineral elements levels and the trees' bunch production. These results thus open new perspectives for better understanding and control of oil palm mineral nutrition, so long as the critical levels for enzymatic activities can first be defined. On the other hand, the third part of the study devoted to comparing variations in the biochemical parameters in function of yield for different types of planting material planted in the genetic trials, did not lead to precocious selection criteria being proposed, as the observations made did not point to constant relations between enzymatic activities and the yield from the various crosses under study.

RESUMEN

Componentes bioquímicos de la producción de la palma africana.J. M. ESCHBACH, *Oléagineux*, 1982, 37, N° 4, p. 159-168

El I.R.H.O. realizó de 1978 a 1981, en sus laboratorios de Montpellier y de Costa de Marfil, un estudio que comparaba la producción de la palma africana y las actividades de ciertas enzimas, como la nitrato-reductasa, la glutamato deshidrogenasa, la glutamina sintetasa, la fosfatasa ácida, la peroxidasa, la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. También se estableció los contenidos de aminoácidos. Primero se ha tenido que poner en su punto o adaptar los métodos de dosificación, definiendo las condiciones de muestreo. Se propuso métodos relativamente sencillos y rápidos de medida de actividades enzimáticas al final de esta primera parte. Luego se estudió, en experimentos de fertilización, las relaciones que existen entre la nutrición mineral y estos parámetros bioquímicos. Así se mostró que los contenidos de algunos aminoácidos dependen de la nutrición potásica o de la nutrición nitrogenada, y que las actividades de la nitrato-reductasa y de la fosfatasa ácida muestran una correlación con los contenidos de elementos minerales de las hojas y con la producción de racimos de los árboles. O sea que estos resultados abren nuevas perspectivas para comprender mejor y controlar la nutrición mineral de la palma africana, como sea posible previamente definir niveles críticos de actividades enzimáticas. En cambio, la tercera parte del estudio sobre una comparación de las variaciones de parámetros bioquímicos con arreglo a la producción, para diferentes tipos de material vegetal sembrados en las pruebas genéticas, no han permitido proponer criterios de selección precoz, porque las observaciones efectuadas no han evidenciado relaciones constantes entre las actividades enzimáticas y la producción de los diversos cruzamientos estudiados.

Biochemical components of oil palm yield

J. M. ESCHBACH (1)

As with most perennial plants, oil palm improvement work takes a lot of time and space, but a certain amount of both can be saved by using criteria for early selection. Already, the study of mitochondrial activities has shown that there are significant correlations between such activities measured in the nursery and field production of the same crosses [I.R.H.O., 1980]. Enzymatic activities can also provide an estimate of the metabolic potential of a genotype [Hageman, 1967] and by virtue of this furnish other criteria for early selection, on condition that it can first be shown that the activities are correlated to yield and that they can be measured reliably in the juvenile stage.

This is one of the reasons why the I.R.H.O. was interested in studying the enzymatic activities of the oil palm, which can also reflect the influence of environment and mineral nutrition on plant function.

After describing the methods used and the analyses made up to now on leaves, roots or seed germ, we will go on to examine how mineral nutrition is involved and the variation due to the nature of the planting material.

The variations allow crosses to be distinguished within the same trial, without it being possible to estimate the corresponding yield potential for lack of a general relationship between the biochemical parameters and yield.

I. — QUANTITY ANALYSIS METHODS AND VARIATION FACTORS

The first part of the study was devoted to the choice of enzymes and the working out of their quantity analyses.

1. — Nitrate reductase.

Certain enzymes of nitrogen metabolism were chosen, in particular nitrate reductase. With nitrite reductase, it ensures the transformation of NO_3^- into NH_4^+ . Less active than nitrite reductase [Schradet *et al.*, 1968], it would be the first limiting stage in nitrogen assimilation. Some see in it a test for early selection [Johnson, 1976]; others consider it to be merely a growth indicator, if the nitrates are not limiting.

a) Analysis.

Enzymatic activity was measured by the *in vitro* method. The substrate concentration is saturating for 100 mM and the wetting agent used is propanol at 2.5 p. 100. Activity is proportional to the time of incubation for at least 1 hour.

The analyses carried out in the Ivory Coast showed this enzyme to be very labile, with a half-life of about 4 hours.

b) Variations.

The analysis results sometimes vary very considerably according to the sampling.

Different factors play their part :

— the time of sampling, as light induces the activity [Beever, 1965 ; Chen, 1969] ; this gives rise to variations ranging from 1 to 6 nursery plants, from 1 to 2 on adult trees during the day (with a peak at about 11 a.m.) ;

— leaf rank : in nursery plants with 12 leaves, activity is at its highest point around rank 6, and in adult trees also the zone of

(1) I.R.H.O., 11, Square Pétrarque, 75016 Paris (France)

sampling is relevant ; in practice, it was decided to sample the upper three-quarters of the leaf ;

— age : activity declines with age, then stabilizes when the leaf surface is definitely established ;

— the terrain.

On the other hand, the coefficient of variation for an analysis is quite small (5.9 p. 100). That between plants in the same cross is over 25 p. 100 and without relationship to vegetative vigour.

As nitrate reductase is induced by its substrate [Beevers, 1965] and inhibited by NH_4 [Losada, 1970 ; Erith, 1972 ; Orebasito, 1975], induction tests were carried out. When the leaf bases were soaked in a nitrate solution for 4-6 hours, activity was multiplied by 6 in deficient young plants, by 50 in leaflets from adult trees. It would seem, therefore, that it is the supply of nitrate rather than potential enzymatic activity which is the chief factor limiting nitrogen assimilation.

2. — Free amino acids and proteins.

The study of nitrogen metabolism is completed by quantity analysis of free aminoacids and proteins.

That of free aminoacids is carried out on a Technicon TSM autoanalyser [Lozano *et al.*, 1976].

The proteins are analysed by the Lowry method [1951]. It is necessary for the leaves to be ground in the presence of PVP (Polyclar AT). For analysis of germ extracts Polyclar is not indispensable, but Triton X-100 at 0.1 p. 100 is recommended.

The protein rate declines from leaf 17 on in adult palms, and also varies in function of age and situation.

3. — Acid phosphatase.

It can play an important part in regulating glucide metabolism [Turner, 1975]. It is affected by certain conditions of mineral nutrition [Besford, 1975, 1978] or water supply [Adjahossou, 1977].

a) Analysis.

The enzyme is relatively stable. The addition of mercapto-ethanol to the leaf extraction medium is indispensable. For germ extracts, Triton X-100 is necessary.

b) Variations.

Here again, many factors come into play :

— the type of soil,
— age : activity and specific activity decrease slightly with age,
— leaf rank : on adult trees, activity is maximum at about rank 5, and levels out from ranks 9 to 17 ; it also varies along the leaflet ; maximum specific activity is found in old leaves and remains relatively constant for one leaflet.

The coefficient of variation of the analysis is small (5.6 p. 100). Variations between individuals within the same cross give coefficients of 9.5 p. 100 for leaves and 16.4 p. 100 for roots in nursery plants, 16 p. 100 for leaves of adult trees.

4. — Oxidases and phenols.

The oxidases involved in auxin regulation phenomena and the phenols peroxidases and polyphenoloxidases are fairly sensitive to nutrient status [Yakimovich, 1976 ; Smirnova, 1976]. Their analyses are perfected, but have not yet been used in our studies.

5. — Glucose 6 phosphate dehydrogenase.

Glucose 6 phosphate dehydrogenase and 6 phosphogluconate dehydrogenase are the first two enzymes in the pentose cycle which allows the regeneration of the NADPH cofactor indispensable to lipogenesis ; this regeneration may be a limiting factor for oil production. The extraction and analysis of fruit pulp have shown that enzymatic activities were multiplied by two or three at the time of ripening and decreased thereafter.

II. — INFLUENCE OF MINERAL NUTRITION

These biochemical parameters vary in function of mineral nutrition.

1. — Effect on free amino acids in the leaves.

Deficiency or poor balance in N, P or K leads to increase in the FAA rate because of unsatisfactory incorporation with the proteins [NGuyen *et al.*, 1973 ; Fabian-Galan, 1970 ; Mitchell *et al.*, 1976]. The results of a fertilizer trial in Indonesia (AL CP 1) do not support this theory, since the application of nitrogenous fertilizers increase both yield and the FAA rate.

Fertilizer	P. 100 N leaf 17	FAA (micromole/10 g) f.m.	Production (kg bunches/ tree/year)
N0	2.12	38.1	108
N1	2.40 **	45.4 **	158 **
N2	2.44 **	44.0 **	155 **

A more detailed examination of the effect of nitrogen on the FAA content shows that the increase concerns aspartic and glutamic acids.

In an N, K, Mg trial in the Ivory Coast (LM-CP 23) which responded well to potassic fertilization, an increase in aspartic and glutamic acids and a drop in asparagine and glutamine were observed when the K deficiency was lifted. The latter therefore causes an increase in amides as a result of storage of the available N not used for protein synthesis.

The coefficients of correlation between yield and aspartic and glutamic acid contents are 0.90 * and 0.84 * respectively. A similar effect of potassic nutrition has been seen in another trial in the Ivory Coast (DA-CP 13).

2. — Effect on nitrate reductase and acid phosphatase.

This effect has been studied in a field experiment set up on the La Me Station in the Ivory Coast in 1974-75. It is a $4 \times 2 \times 2$ factorial trial studying the action of potassium chloride, ammonium sulphate and magnesium sulphate.

The results are summarized in Table I.

There are significant differences in activity between treatments, as well as significant correlations between activities and yield or the leaf elements levels.

Such results justify the interest taken in these enzymes and open up a new line of research on mineral nutrition. Indeed, should it be possible to define critical levels for enzymatic activities, this might provide a new means of diagnosing mineral deficiencies or imbalances in the oil palm.

III. — TRIAL FOR THE BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF DIFFERENT CROSSES

1. — Planting material used.

For the criteria retained to be usable, it must first be shown that they make it possible to identify crosses.

A preliminary study was made in Montpellier on young 5-leaf plants from a few available families coming from La Me \times Delh (LM \times DE) and Yangambi \times Delh (YA \times DE) crosses.

It was completed by the study of 8 high- and low-yielding crosses in Montpellier using seedlings, and in La Me with nursery plants.

The results were very encouraging, showing significant differences in activity between crosses as regards nitrate reductase and acid phosphatase, with good correlation between the measurements taken in Montpellier and in La Me.

As the outcome of this first study was satisfactory, the planting material was diversified ; it is listed in Table II.

The hybrids planted in 1961 corresponded to a first La Me \times Delh interorigin generation offering a very wide range of oil yields per ha (2.4 t-4.4 t at 6-9 years).

The 1967 and 1968 hybrids form part of the genetic fields planted in the framework of later improvement work in La Me and in Mondoni, Cameroon. Yield variations are smaller.

2. — Variation in function of the type of planting material.

The measurement of enzymatic activities was completed by the determination of the protein content and specific weight of the leaflet laminae. Average values per type of cross are shown in Table III.

a) Nitrate reductase.

NR activity in adult trees is lower in the families planted in 1961 than in those planted in 1967 and 1968. No doubt this is due to the influence of age, sampling having been done on the same leaf rank.

The activities of nursery plants, greater in MD-GP 1, are explained by the fact that sampling was done on younger plants.

As a general rule, activities are 10 to 100 times less than those quoted for other trees in the relevant literature.

Average activity is much more variable between sampling dates than between crosses.

However, there are significant differences in activity between the crosses studied in each of the trials taken separately.

No relationship is found between the nitrate reductase activities of nursery plants and those of adult trees (Fig. 1 - example of LM-CP 9).

b) Specific weight of leaflets.

This is a parameter simple and quick to measure, characteristic of foliage vigour.

The means of the different trials are comparable, and there are significant differences between crosses.

There is a positive but not significant relationship between the specific weight of families at the juvenile and adult stages.

c) Acid phosphatase.

It will be recalled that this was measured on the leaves of adult trees and the roots of nursery plants.

In each organ, the activities are comparable for the various types of crosses in each trial. Within the trials, there are significant differences in activity between crosses. The same applies to specific acid phosphatase activity.

On seedlings (BIO-ES 3), acid phosphatase activities of the leaves and roots correlate positively.

There is no relationship between that activity of adult trees and that of nursery plants; on the other hand, the activity of nursery plants is found to be in significant correlation with the acid phosphatase activity of germs for trials LM-GP 9 and MD-GP 1.

3. — Relationships between biochemical parameters and yield.

a) Free amino acids.

They were analysed in the leaves of 8 families in the 1961 plantings; there are significant differences in contents between families for aspartic and glutamic acids, arginine, serine and proline.

Significant correlations were brought to light between the free amino-acid rate and yield parameters.

	Production 6 — 9 years	
	No. of bunches	Mean bunch weight
Mean weight	— 0.74*	
Asparagine + glutamine	— 0.76*	+ 0.89**
Aspartic + glutamic acids		

A high amide level, usually reflecting the storage of nitrogen unused for protein synthesis, is associated with crosses having a small number of large bunches; conversely, a low amide rate corresponds to crosses with many small bunches. However, there is no significant relationship with yield.

b) Proteins.

In adult trees the protein rate is related to bunch production either negatively (1961 plantings, $r = -0.74^*$), or positively (LM-GP 8, $r = 0.61^*$), or else not at all (LM-GP 9, $r = 0.14$) (Table IV).

N.B. Measurements were made on leaves on adult trees or nursery plants, on germs of germinated seeds.

The same applies to the protein content of the roots of nursery plants and germs.

c) Specific weight of leaflets.

Table V sums up the relationships between this factor and the yield parameters.

In adult trees, this factor seems to be related positively to mean bunch weight and negatively to the number of bunches as well as bunch and oil yield per ha.

The results obtained with nursery plants are less clear.

d) Nitrate reductase activity.

With the exception of the LM \times DE in the 1961 plantings, no relation is observed between nitrate reductase activity and yield (Table VI).

e) Acid phosphatase activity.

In the preliminary trials, a strong negative liaison was found between root activity in nursery plants and yield at maturity. Later measurements did not confirm this first observation (Table VII).

The relation may be either positive or negative, depending on the trial or the type of planting material. The same is true for specific activity.

The relationships observed between the biochemical parameters and those of yield vary greatly according to the type of trial and of cross. In no way can they serve as criteria for early selection.

CONCLUSIONS

The main object of this study was to seek biochemical criteria characteristic of the crosses to serve as a complement to mitochondrial activities in tests for early selection.

The results up to now show that it is indeed possible to find significant differences between crosses for each of the parameters studied, but that there is no overall relationship between the biochemical parameters and yield.

On the other hand, it does appear that the enzymatic activities, nitrate reductase and acid phosphatase, the essential objects of the study, are distinctly influenced by nutrient status, to such an extent that they could be considered as a means of diagnosis.

N, K, or Mg fertilization having a marked effect on yield increases nitrate reductase activity and reduces that of acid phosphatase much more than the N, K or Mg levels in the leaves.

These enzymes could also be studied in pot culture, using increasing rates of nutrient elements, which might make it possible to single out families with small mineral element requirements.

It would finally be possible to develop the study of the enzymes involved in lipogenesis, the ultimate biochemical process which leads from the production of glucides by photosynthesis to the accumulation of oil in the fruit. They have not been studied up to now because it was thought that the oil contained in the tissues concerned might hinder analysis. Now, we have been able in the course of this work to work out a simple and rapid method for procuring a clear serum representative of the medium in which the transformation of the glucides into lipides occurs, a serum on which it is perfectly feasible to make quantity analyses of enzymes.

One would therefore be able to examine the efficiency of the enzymatic system in the fruit as well as any factors limiting lipogenesis, and compare crosses on this basis.